

QSAR DAN MOLECULAR DOCKING SENYAWA DERIVAT LUMIRACOXIB, INHIBITOR OKSIGENASI 2-AG PADA TERAPI INFLAMASI

Nursalam Hamzah, Haeria, Nurul Muhlisa Mus

Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar

ABSTRACT

Cyclooxygenase-2 (COX-2) is a molecular target that is widely studied and has a crucial role in the last decade. The high contribution of COX-2 in inflammation and inhibiting function of 2-AG oxygenation by COX-2 inhibitors in inflammatory, open a new chapter dealing with the research on inhibition of COX-2. The purpose of this study is to determine the physical-chemical properties that play an important role in the activity of lumiracoxib derivatives based QSAR equation and look from the interaction of ligand-receptor through docking simulations. Statistical analysis was calculated by multilinear regression analysis using SPSS Statistics 17.0. Leave One Out cross validation, Pearson correlation, and the relationship of IC₅₀ experiments and IC₅₀ predictions curve are used to obtain QSAR equation with significantly statistic criteria. Molecular docking to study ligand-receptor interactions, performed using MOE 2009.10. Hydrogen bonds with amino acid residues on the receptor 4OTY include Ser A530 and Tyr A385 with the best scoring value in compound 8 is -8.0976 and the receptor 3HS6 include Ser A530, Tyr A385, Tyr A355 with the best scoring value in compound 1 is -6.34934. QSAR models show the best QSAR equation: $\text{Log}(1/\text{IC}_{50}) = -92.2384 + 0.5327 \text{ AM1_dipole} + (-0.00049) \text{ AM1_E} + 13.3123 \log S + 35.7654 \text{ mr} + (-0.5770 \text{ VSA})$.

Keywords : anti-inflammatory, Lumiracoxib, docking, QSAR, 2-AG

PENDAHULUAN

Tingginya kejadian inflamasi meliputi 1 dari 5 orang pernah mengalami inflamasi menjadikan obat anti-inflamasi non steroid (AINS) merupakan salah satu

kelompok obat yang banyak diresepkan dan juga

digunakan tanpa resep dokter (Zukhrullah, 2012: 37).

Penghambatan COX-2 adalah salah satu target molekuler yang paling banyak diteliti dan memiliki peranan penting dalam dekade terakhir dalam menangani inflamasi (Billones, dkk., 2013: 125) disebabkan karena sifat enzim ini yang terinduksi dalam konsentrasi tinggi pada lesi inflamasi (Jashim, dkk., 2013: 712) dan meningkat 10-80 kali lipat dari keadaan normal (NPS. 2010: 3) dibandingkan COX-1. Sehingga, menjadikan COX-2 sebagai target molekuler yang lebih dipertimbangkan untuk menangani inflamasi dibandingkan COX-1.

Penemuan fungsi penghambatan oksigenasi endocannabinoid (2-AG) oleh COX-2 dalam menangani inflamasi, membuka lembaran baru penelitian COX-2. Di sisi lain, apresiasi molekul ini pada penanganan inflamasi juga telah mengalami peningkatan (Hermanson, 2011: 560) sehingga, strategi farmakologis peningkatan 2-AG dapat menawarkan kesempatan baru dalam terapi inflamasi.

Lumiracoxib adalah salah satu inhibitor selektif COX-2 dengan selektivitas terbaik (Warner, 2004: 793) dan mampu menghambat oksigenasi 2-AG (Windsor, dkk., 2013: 5860).

Mengingat besarnya peran COX-2 dalam proses inflamasi dan aktivitas penghambatan oksigenasi 2-AG oleh lumiracoxib sebagai selektif substrat COX-2, maka perlu dilakukan penelitian untuk

menghasilkan desain obat antiinflamasi dengan aktivitas penghambatan oksigenasi 2-AG yang lebih baik dari sebelumnya dan dapat dilakukan dengan mudah.

Faktanya, proses desain obat secara konvensional sangat rumit dan membutuhkan waktu dan biaya yang cukup banyak, oleh karena itu dengan adanya teknologi komputasi meliputi metode *Quantitative Structure Activity Relationship* (QSAR) dan *molecular docking* menjadi salah satu solusi yang dapat mengurangi waktu dan biaya serta faktor coba-coba dalam desain obat.

Pada penelitian ini, dilakukan metode analisis QSAR sehingga aktivitas teoritik suatu senyawa baru desain obat dapat diprediksi. Dilakukan pula *molecular docking* untuk melihat interaksi senyawa tersebut dengan reseptornya.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sifat fisika kimia yang berpengaruh terhadap aktivitas inhibisi 2-AG. Serta melihat interaksi ligan-reseptor turunan senyawa lumiracoxib pada reseptor COX-2 tipe 4OTY dan 3HS. Dan diharapkan penelitian ini bermanfaat untuk menjadi panduan/dasar desain dalam mengusulkan senyawa turunan yang memiliki aktivitas dan selektivitas yang lebih baik terhadap penghambatan oksigenasi 2-AG sehingga membantu penanganan yang lebih maksimal pada terapi inflamasi.

METODE PENELITIAN

Sumber data : Data aktivitas inhibisi oksigenasi 2-AG berupa IC_{50} secara in vitro suatu turunan lumiracoxib dari hasil penelitian Matthew A.W. (2013) dengan judul *Exploring the Molecular Determinant of Substrate - Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by Lumiracoxib* (Bioorganic & Med.Chem. Lett., 2013: 5861).

Alat yang digunakan : MOE 2009.10, HyperChem, dan SPSS 17.0

Teknik pengolahan dan analisis data

1. HKSA

Pemodelan struktur turunan lumiracoxib menggunakan HyperChem. Dioptimasi geometri dengan metode *ab initio*. Lalu deskriptor dikalkulasi menggunakan MOE 2009.10. Deskriptor yang dihitung adalah AM1_E, AM1_Eele, AM1_HOMO, VSA, vol, AM1_LUMO, AM1_dipole, AM1_HF, log P(o/w), glob, ASA_H, mr. Perhitungan statistik dengan analisis regresi multilinear untuk mengetahui R^2 , CV LOO (*cross validation leave one out*) nilai q^2 , R^2 hubungan IC_{50} eksperimen dan IC_{50} prediksi, dan jumlah signifikansi korelasi pearson tertinggi.

2. Docking Molecular

Protonasi ligan dengan perintah *Protonate 3D* (urutan perintah MOE>>Compute>>Protonate 3D) dengan setting pH 7.4 dan *cut off* (Å) 10.0. Kemudian protonasi reseptor dengan perintah yang

sama. Lalu simulasi *docking* dengan urutan perintah MOE>>Compute>>Simulations>>Dock. Receptor pada panel Dock diatur Receptor+Solvent, Site diatur Ligand Atoms. Ligand diatur MDB File. Placement diatur Triangle Matcher, rescoring 1 menggunakan London dG, dan refinement diatur Force Field. rescoring 2 diatur affinity dG. Analisis *molecular docking* dengan melihat nilai *scoring terkecil*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa persamaan pertama yang memenuhi kriteria statistik terbaik. Dari hasil regresi multilinear menunjukkan korelasi yang baik, dengan hasil eksperimen ($r^2 = 0.997114$) dan validasi silang LOO ($q^2 = 0.968884$). Nilai q^2 yang mendekati 1 menunjukkan tingkat penyimpangan antara nilai aktivitas IC_{50} prediksi dan nilai IC_{50} eksperimen relatif kecil (Gusmita, 2013: 137). Kemudian dari kurva hubungan IC_{50} prediksi dan IC_{50} eksperimen, persamaan pertama memiliki nilai R^2 sebesar 0.983 (Gambar IV.5) serta pada *output* korelasi *pearson* menunjukkan 3 signifikansi yang lebih tinggi dibandingkan persamaan lainnya

Adapun persamaan diperoleh yaitu :

$$\text{Log } (1/IC_{50}) = -92.2384 + 0.5327 \text{ AM1_dipole} + (-0.00049) \text{ AM1_E} + 13.3123 \log S + 35.7654 \text{ mr} + (-0.5770$$

VSA) . Dimana nilai $n : 11$, $r : 0.9971$, $SE : 0.0879$, $F : 172.508$, dan $Sig : 0.000014$.

Menunjukkan deskriptor-deskriptor yang berpengaruh yaitu: AM1_dipole, AM1_E, log S, mr, VSA terhadap aktivitas inhibisi 2-AG.

Dari model persamaan tersebut, aktivitas senyawa turunan lumiracoxib akan meningkat dengan penambahan substituen-substituen yang memiliki energi AM1_dipole tinggi, AM1_E yang rendah, log S dan mr yang besar, dan nilai VSA yang rendah. Dapat diusulkan substituen yang memiliki mr yang besar yaitu I (13.8741), substituen dengan energi total yang lebih rendah, nilai momen dipole yang lebih tinggi yaitu substituen yang lebih polar. Substituen yang memiliki log S (logaritma kelarutan dalam air) yang besar seperti gugus hidroksil (-OH), karboksil (COOH) dan golongan amino.

Dari proses docking molecular , interaksi yang terjadi antara senyawa-senyawa turunan lumiracoxib dengan reseptor ditunjukkan dengan nilai *docking score* (S), makin rendah nilai S maka interaksi antara keduanya makin kuat. Fungsi *scoring* (London dG) yang diestimasi sebagai nilai energi bebas pengikatan $\Delta G_{Binding}$ dalam Kkal/mol. Nilai $\Delta G_{Binding}$ menunjukkan kuat ikatan yang terjadi antara reseptor dengan ligan. Semakin negatif dari harga $\Delta G_{Binding}$ maka ikatan kompleks protein-ligan akan semakin kuat. Hal ini karena kestabilan

dan kekuatan interaksi non kovalen pada kompleks protein-ligan dapat dilihat dari besarnya energi bebas yang dilepaskan saat interaksi kompleks protein-ligan terbentuk (Imaniastuti, 2011: 32).

Hasil simulasi *docking* berupa interaksi ligan-reseptor ditunjukkan di tabel 5. Dengan ligan asli memiliki ikatan hidrogen dengan residu asam amino Ser A530, Tyr A385 (gambar 2). Nilai *scoring* terendah yaitu senyawa 8 dengan nilai -8.0976 menunjukkan bahwa ligan ini memiliki ikatan yang paling kuat terhadap reseptor COX-2 tipe 4OTY sehingga mampu menghambat lebih baik dibandingkan turunan lumiracoxib yang lain.

Sedangkan pada reseptor COX-2 tipe 3HS6 diperoleh ligan asli dengan kontak residu ikatan hidrogen pada asam amino Ser A530, Tyr A385 pada gambar 3. Interaksinya dengan ligan dapat dilihat pada tabel 6. Sedangkan nilai *scoring* terendah ditunjukkan oleh senyawa 1 dengan nilai -6.34934.

KESIMPULAN

1. Pada studi HKSA derivat Lumiracoxib, diperoleh persamaan terbaik :

$$\text{Log } (1/IC_{50}) = -92.2384 + 0.5327 \text{ AM1_dipole} + (-0.00049) \text{ AM1_E} + 13.3123 \text{ log S} + 35.7654 \text{ mr} + (-0.5770 \text{ VSA})$$

dengan $n = 11$, $r = 0.9971$, $SE = 0.0879$, $F = 172.5081$ dan $sig = 0.0000136$.

2. Interaksi derivat lumiracoxib pada reseptor 4OTY, nilai *docking score* (S) terbaik pada senyawa 8 yaitu -8.0976. Sedangkan pada reseptor 3HS6 yaitu senyawa 1 dengan nilai *docking score* (S) terbaik yaitu -6.34934.

KEPUSTAKAAN

Billones, Junie B., Salvador M. B. *Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) Study of Cyclooxygenase-2 (COX-2) Inhibitor*. Philippine Journal of Science, **140**(2), 125-132. 2011

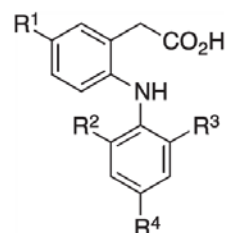
Hermanson, D. J., Lawrence J.M. *Cannabinoid, Endocannabinoid and Cancer*. Cancer Metastasis Rev. December : **30**(3-4): 599-612. 2011

Imaniastuti, Riski. *Simulasi Dinamika Molekul Neuraminidase Virus Influenza Subtipe H1n1 Dengan Inhibitor Potensial Peptida Siklis Disulfida (DNY, LRL, NNY)*. FMIPA UI. 33-34. 2011

National Prescribing Service (NPS). *COX-2-Selective NSAIDs : New Wonder Drugs?*. 2010

Warner, T. D., Jane A. M. *Cyclooxygenase: new forms, new inhibitor, and lessons from the clinic*. FASEB J. **18**, 790-804. 2004

Windsor, M. A., Daniel J. H. *Substrate-Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2: Development and Evaluation of Achiral Profen Probes*. ACS med. Chem. Lett. **3**, 759-763. 2012



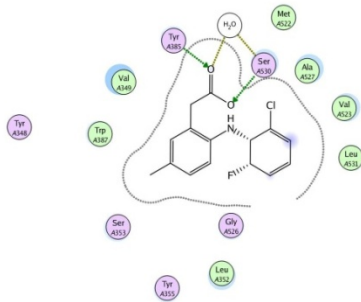
Gambar 1. Posisi substituen lumiracoxib

Tabel 1. Daftar Substituen turunan Lumiracoxib

Seny	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	2-AG IC ₅₀ (μM)	AA IC ₅₀ (μM)
1	CH ₃	F	Cl	H	0.04 ± 0.01	-(25%)
2	CH ₃	H	Cl	H	0.06 ± 0.01	-(0%)
3	CH ₃	F	H	H	1.8 ± 0.6	-(0%)
4	CH ₃	H	H	H	-(0%)	-(10%)
5	CH ₃	Cl	Cl	H	0.03 ± 0.3	0.2 ± 0.1 (60%)
6	CH ₃	F	F	H	1.0 ± 0.3	-(0%)
7	CH ₃	F	CH ₃	H	-(0%)	-(0%)
8	CH ₃	Cl	Cl	Cl	0.07 ± 0.01	-(32%)
9	H	F	Cl	H	0.04 ± 0.01	-(15%)
10	H	H	Cl	H	3.9 ± 2.0	-(0%)
11	H	F	H	H	-(25%)	-(0%)
12	H	H	H	H	-(8%)	-(15%)
13	H	Cl	Cl	H	0.03 ± 0.01	0.1 ± 0.01 (85%)
14	H	F	F	H	1.2 ± 0.4	-(10%)
15	H	F	CH ₃	H	-(15%)	-(0%)
16	H	Cl	Cl	Br	0.06 ± 0.02	0.14 ± 0.05 (55%)

Tabel 2. Komparasi 3 Kriteria Statistik beserta kombinasi 5 deskriptor

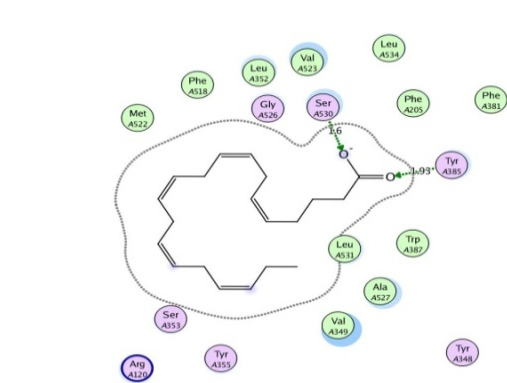
Pers. ke-	R ² Model Pers.	CV LOO (q ²)	Sig. Korelasi Pearson	Deskriptor
1	0.994237	0.968884	3 Signifikansi	AM1_dipole, AM1_E, log S, mr, VSA
2	0.990606	0.955242	2 Signifikansi	AM1_E, AM1_Eele, AM1_HOMO, mr, VSA
3	0.990438	0.957104	2 Signifikansi	AM1_Eele, AM1_HF, AM1_HOMO, mr, VSA
4	0.990232	0.954859	2 Signifikansi	AM1_Eele, AM1_HOMO, AM1_LUMO, mr, VSA
5	0.989898	0.953741	2 Signifikansi	AM1-dipole, AM1_Eele, AM1_HOMO, mr, VSA
6	0.989577	0.94531	2 Signifikansi	AM1_E, AM1_HOMO, AM1_LUMO, mr, VSA
7	0.989293	0.951545	3 Signifikansi	AM1_Eele, AM1_HOMO, log S, mr, VSA
8	0.987341	0.944617	3 Signifikansi	AM1_Eele, AM1_HOMO, glob, mr, VSA
9	0.986276	0.852989	3 Signifikansi	AM1_Eele, AM1_HOMO, log S, mr, VSA
10	0.985919	0.924523	3 Signifikansi	AM1_Eele, AM1_HOMO, log P (o/w), mr, VSA



Gambar 2. Interaksi ligan asli reseptor 4OTY

Tabel 3. Hasil *docking* senyawa turunan lumiracoxib dengan protein 4OTY

Seny.	Entry	Docking Score (S) (kkal/mol)	Jumlah Ikatan	Jarak Ikatan (Å)	Residu Asam Amino yang Terikat	Gugus yang Berikatan
1	2	-7.7308	Hidrogen	1	3.02	Ser A530 =O dari OH _{Don}
2	122	-7.5246	Hidrogen	1	3.01	Ser A530 =O dari OH _{Don}
3	159	-6.32031	Hidrogen	2	3.35	Ser A530 H dari OH _{Don}
				3.32	Tyr A385 =O dari OH _{Don}	
5	174	-7.7182	Hidrogen	1	3.03	Ser A530 =O dari OH _{Don}
6	201	-7.7834	Hidrogen	1	3.01	Ser A530 =O dari OH _{Don}
8	226	-8.0976	Hidrogen	1	3.04	Ser A530 =O dari OH _{Don}
9	251	-7.1298	Hidrogen	1	2.99	Ser A530 =O dari OH _{Don}
10	37	-6.46167	Hidrogen	2	2.55	Ser A530 =O dari OH _{Don}
				3.83	Ser A530 H dari OH _{Don}	
13	60	-6.3132	Hidrogen	1	3.3	Ser A530 =O dari OH _{Don}
				3.3	Tyr A385 H dari OH _{Don}	
14	76	-6.93381	Hidrogen	3	3.22	Tyr A385 =O dari OH _{Don}
				3.16	Ser A530 =O dari OH _{Don}	
				3.69	Ser A530 H dari OH _{Don}	



Tabel 3. Hasil *docking* senyawa turunan lumiracoxib dengan protein 3HS6

Gambar 3. Interaksi ligan Asli reseptor 3HS6

Seny.	Entry	Docking Score (S) (kkal/mol)	Jumlah Ikatan	Jarak Ikatan (Å)	Residu Asam Amino yang Terikat	Gugus yang Berikatan
1	14	-6.34934	Hidrogen	2	2.94	Tyr A385 =O ^{Don}
					2.59	Ser A530 H ^{Don}
2	139	-5.9434	Hidrogen	2	3.62	Tyr A385 H ^{Don}
					2.55	Ser A530 H ^{Don}
3	169	-5.8108	Hidrogen		3.41	Tyr A385 =O ^{Don}
				3	2.27	Ser A530 H ^{Don}
					2.63	Ser A530 H ^{Don}
5	194	-5.8216	Hidrogen	1	2.11	Ser A530 OH ^{Don}
6	218	-6.8728	Hidrogen	1	3.35	Tyr A355 H ^{Don}
8	247	-6.25399	Hidrogen	1	2.99	Tyr A385 =O ^{Don}
9	269	-6.2679	-	-	-	-
10	36	-5.57782	Hidrogen	1	2.36	Tyr A355 H ^{Don}
13	58	-5.6903	-	-	-	-
14	99	-4.89142	Hidrogen	1	4.37	Tyr A385 H ^{Don}
16	113	-5.9576	-	-	-	-

Don : Donor, Ace : Akseptor